مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۲، شماره ۳، سال ۱۳۹۵

اثر ژنوم‌های هومولوگ بر تولید گامت‌های کاهش نیافته در هیبریدهای حاصل از تلاقی گندم و آجیلوپس

Effect of Homologous Genomes on Unreduced Gamete Formation in wheat and Aegilops Crosses

ژاله فخری[۱]، قادر میرزاقادری[۲]، سمیرا احمدیان[۱] و هدیه بدخشان[۳]

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجویان سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۵/۲۱

چکیده

فخری، ژ.، میرزاقادری، ق.، احمدیان، س. و بدخشان، ه. ۱۳۹۵. اثر ژنوم‌های هومولوگ بر تولید گامت‌های کاهش نیافته در هیبریدهای حاصل از تلاقی گندم و آجیلوپس. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۲: ۳۸۱- ۳۶۹.**

در هیبریدهای بین گونه‌ای بسته به ترکیب ژنتیکی والدین، گامت‌های کاهش نیافته به وفور تشکیل شده و فراوانی تشکیل آنها بیشتر از گونه‌های والدی است. تحقیق حاضر با هدف بررسی گامت‌های کاهش نیافته در هیبریدهای حاصل از تلاقی گندم نان ($2n = 6x = 42$, AABBDD) با دو گونه *Aegilops cylindrica* ($2n = 4x = 28$; $C^cC^cD^cD^c$) و *Ae. triuncialis* ($2n = 4x = 28$; $U^tU^tC^tC^t$) انجام شد. فرض این بود که دانه‌های گرده کاهش نیافته با فراوانی بیشتری در هیبریدهای گندم× آجیلوپس تریانسیالیس که فاقد ژنوم هومولوگ هستند ($2n = ABDU^tC^t$)، نسبت به هیبریدهای گندم× آجیلوپس سیلیندریکا که ژنوم هومولوگ دارند ($2n = AB\underline{DD^c}C^c$)، تشکیل می‌شود. این فرض از طریق بررسی میوز، میزان دانه‌های گرده کاهش نیافته، کارایی دانه گرده و میزان بذردهی در هیبریدها مورد تأیید قرار گرفت. عدم وجود ژنوم‌های هومولوگ در هیبریدهای گندم× آجیلوپس تریانسیالیس، میوز را در ۳ درصدسلول‌های مادر گرده به میوز غیر کاهشی سوق داد. محصول چنین تقسیم غیر کاهشی به صورت دانه‌های گرده کاهش نیافته و تولید بذر F_2 در این نوع هیبرید تظاهر پیدا کرد.

واژه‌های کلیدی: گندم، تلاقی بین گونه‌ای، هیبریداسیون، پلی‌پلوییدی، گامت کاهش نیافته، کارایی دانه گرده.

نویسنده مسئول: gh.mirzaghaderi@uok.ac.ir تلفن: ۰۸۷۶۶۲۰۵۵۲

مقدمه

گندم نان (.*Triticum aestivum* L؛ $2n = 6x = 42$; AABBDD) یک آلوهگزاپلوئید مربوط به خانواده پواسه، زیرخانواده پوییده و طایفه گندمیان است (Huang *et al.*, 2002). انسان دوازده هزار سال پیش در خاورمیانه گندم دیپلوئید و تتراپلوئید را اهلی کرد و برای اولین بار در ناحیه هلال حاصلخیز مورد کشت قرار داد (Harlan and Zohary, 1966).در حدود هشت هزار سال قبل گندم آلوهگزاپلوئید و از آن جمله گندم نان طی تلاقی گندم اِمِر (Emmer; AABB genome) و گونه آجیلوپس تاوشی (*Aegilop stauschii*؛ $2n = 2x = 14$; DD) تشکیل شد (Gu *et al.*, 2004 ؛Petersen *et al.*, 2006؛ Huang *et al.*, 2002). تولید گندم‌های پلی‌پلویید از طریق تولید و امتزاج گامت‌های کاهش نیافته در هیبریدهای بین گونه‌ای به وجود آمده است. در واقع گامت‌های کاهش نیافته عامل اصلی در ایجاد پلی‌پلوئیدها در طبیعت بوده است (Mason and Pires, 2015؛ de Storme and Mason, 2015) به طوری که در حدود ۷۰٪ گیاهان گلدار و حدود ۵٪ بازدانگان پلی‌پلوئید هستند (Harlan and Zohary, 1966).

تولید گامت‌های کاهش نیافته در هیبریدهای بین گونه‌ای غالباً از طریق دو نوع میوز غیر کاهشی به نام‌های FDR (First Division Restitution) و SDR (Second Division Restitution) رخ می‌دهد. در FDR گامت‌های 2n تولید شده از نظر ژنتیکی معادل میوزی هستند که در آن تقسیم اول (میوز I) حذف شده باشد. از آن‌جا که یکی از وقایع مهم در میوز I کراسینگ‌اور و نوترکیبی است، در گامت‌های حاصل از FDR نوترکیبی رخ نمی‌دهد و در نتیجه هتروزیگوستی والدین به گامت‌ها منتقل شده و به طور ژنتیکی مشابه با والد خود هستند. این نوع از تقسیم غیرکاهشی میوز به وفور در گامتوژنز نر و ماده و همچنین گامتوژنز ماده گیاهان آپومیکت و جانوران پارتنوژنز مشاهده شده و منجر به تولید فرزندان کلونی (مشابه با والدین) می‌شود.در مقابل، گامت‌های 2n حاصل از SDR تنها جزئی از هتروزیگوستی والدین را حفظ کرده و گامت‌های حاصل مشابه با محصول نوعی از میوز هستند که در آن تقسیم دوم رخ نداده باشد (de Storme and Geelen, 2013).

در هیبریدهای بین گونه‌ای بسته به ترکیب ژنتیکی والدین، گامت‌های کاهش نیافته به وفور تشکیل شده و فراوانی تشکیل آن‌ها بیشتر از گونه‌های والدی است (Silkova *et al.*, 2011؛ Ramsey and Schemske, 1998)، به طوری که تشکیل بذرهای آمفی‌پلوئید خود به خودی (حاصل از امتزاج گامت‌های کاهش نیافته) بر روی بوته‌های F_1 دور از انتظار نبوده و بسیاری از گونه‌های آمفی‌پلوئید به ویژه در طایفه

گنـــــدمیان در طبیعـــــت از ایــــن طریـــــق بـه وجـود آمـده‌انـد (Tiwari *et al.*, 2008؛ Xu and Dong, 1992؛ Loureiro *et al.*, 2009؛ Blanco *et al.*, 1983؛ Islam and Shepherd, 1980؛ Maan and Sasakuma, 1977). هر انـدازه دو والد مـورد تلاقـی اختلاف ژنتیکـی بیشـتری بـا یک‌دیگر داشته باشند احتمال وقوع تقسیم غیـر کاهشی بیشتر بوده و گامت‌های کاهش نیافته بـا فراوانی بیشتری تولید می‌شوند. در صـورتی کـه قسمتی از ژنوم در دوگونـه تلاقـی داده شـده بـا یک‌دیگر مشـابه باشـند، ممکـن اسـت در میـوز هیبریدهای F_1 تعداد نسـبتاً زیـادی بیوالنـت‌هـای میلـه‌ای و حلقـوی تشـکیل شـود. ایـن موضـوع می‌تواند تقسیم میوز را بـه حالـت نرمـال یـا غیـر کاهشـــی ســوق داده و لـــذا احتمـــال تشـــکیل گامت‌های 2n به میزان قابل توجهی کاهش پیـدا مـی‌کنـد (Tayalé and Parisod, 2013). اگـر قسمتی از ژنوم دو گونه مورد تلاقی با یک‌دیگر همولوژی داشته باشد، ترکیبی از یونیوالنت‌هـا و بیوالنت‌ها در متافاز I میوز تشـکیل شـده کـه در آن بیوالنت‌ها به صورت کاهشی و یونیوالنـت‌هـا بـه صـورت متعـادل تقسـیم مـی‌شـوند. چنـین مکانیســمی کـه نـوعی بینـابینی از گامـت‌هـای کاهش نیافته را (نسبت به گامت‌هـای حاصـل از FDR و SDR) بـــه وجـــود مـــی‌آورد، IMR (Indeterminate Division Restitution) نامیده شـده اسـت (Lim *et al.*, 2001). عوامـل ژنتیکی و اپی‌ژنتیکـی (Schmidt *et al.*, 2015؛ Mason *et al.*, 2011)، عوامـل فیزیولـوژیکی وشـــرایط محیطـــی باعـــث مشـــاهده مکـــرر گامـــت‌هـــای کـــاهش نیافتـــه مـــی‌شـــود (de Storme and Geelen, 2013؛ Islam and Shepherd, 1980).

مطالعات زیادی در رابطه بـا هیبریـدهای بـین گونـــه‌ای حاصـــل از گنـــدم‌هـــای تتراپلوییـــد وآجیلـــوپس‌هـــای دیپلوییـــد وجـــود دارد (Matsuoka *et al.*, 2013؛ Wang *et al.*, 2010؛ Zhang *et al.*, 2007) ولـی اطلاعـات در مـورد میـوز هیبریـدهای بـین گونه‌ای حاصل از ارقام گنـدم نـان و گونـه‌هـای تتراپلویید آجیلوپس اندک اسـت. در مطالعـه‌ای روی هیبریـدهای حاصـل از چنـد رقـم مختلـف گنـــدم نـــان و گونـــه تتراپلوییـــد آجیلـــوپس تریانسیالیس، تولید گامت‌هـای کـاهش نیافتـه از طریق میوز غیـر کاهشـی FDR منجـر بـه تولیـد آمفـی‌پلوییـدهای کامـل و جزیـی شـد و اثـر ژنوتیپ‌های مختلف گنـدم نـان بـر میـزان تولیـد گامـــت‌هـــای کـــاهش نیافتـــه، معنـــی‌دار بـــود (Mirzaghaderi and Fathi, 2015). هیبریـد حاصـــل از تلاقـــی گنـــدم دوروم و آجیلـــوپس تاوشی تولید گامت‌های کاهش نیافتـه مـی‌کنـد. در این گونه هیبریـدها اغلـب کرومـوزوم‌هـا در متافاز I به صورت یـونی‌والنـت دیـده مـی‌شـوند (Wang *et al.*, 2010؛ Zeng *et al.*, 2014؛ Zhang *et al.*, 2007). این در حـالی اسـت کـه هیبریـــد حاصـــل از تلاقـــی گنـــدم دوروم و آجیلــــــوپس تاوشـــــی تتراپلوییـــــد

(2n = 4x 28; DDDD) فاقد توانایی انجام میوز غیرکاهشی و تولید گامت کاهش نیافته است(Wang *et al.*, 2010). این نتایج نشان می‌هد که حضور کروموزوم‌های هومولوگ در هیبریدهای بین گونه‌ای و جفت شدن آن‌ها در میوز، از تقسیم غیر کاهشی جلوگیری می‌کند. با این وجود هنوز اثر وجود ژنوم‌های هومولوگ ولی از گونه‌های مختلف در هیبریدهای حاصل از تلاقی آن‌ها مورد بررسی قرار نگرفته است. تحقیق حاضر با هدف بررسی گامت‌های کاهش نیافته در هیبریدهای حاصل از تلاقی گندم نان (2n = 6x = 42, AABBDD) با دو گونه آجیلوپس سیلیندریکا ($2n = 4x = 28$; $C^cC^cD^cD^c$) و آجیلوپس تریانسیالیس ($2n = 4x = 28$; $U^tU^tC^tC^t$) انجام شد. هیبریدهای حاصل از تلاقی گندم - سیلیندریکا دارای ژنوم $ABDD^cC^c$ و هیبریدهای حاصل از تلاقی گندم - تریانسیالیس دارای ژنوم $ABDU^tC^t$ هستند.

مواد و روش‌ها

دو رقم مختلف گندم نان به نام‌های نوید و امید با یک نمونه *Aegilops cylindrica* (S386) و یک نمونه *Ae. triuncinalis* تلاقی داده شدند. برای انجام تلاقی‌ها در بهار ابتدا تعدادی از سنبله‌های هر رقم گندم اخته و پاکت‌گذاری شدند. بعد از یک تا سه روز هنگامی که مادگی‌ها آماده پذیرش دانه گرده شدند، با گرده گونه آجیلوپس گرده افشانی و پاکت‌گذاری شدند. از هر رقم حداقل پانزده سنبله و مجموعاً چهل سنبله تلاقی داده شد. بذرهای هیبرید بدون نیاز به تیمار هورمونی یا انجام نجات جنین تشکیل شده و در زمان رسیدگی کامل برداشت شدند. هیبریدهای حاصل از تلاقی ارقام نوید و امید با آجیلوپس سیلیندریکا به ترتیب NC و OC و با آجیلوپس تریانسیالیس NT و OT نام‌گذاری شدند.

خودباروری بوته‌های هیبرید

پانزده بذر NC ، شانزده بذر از OC، شانزده بذر از NT و ده بذر از OT در تشتک پتری کشت شده و زمان رسیدن ساقه‌چه به ۲ تا ۳ سانتی‌متر، هر بذر به طور مجزا در گلدان در گلخانه کاشته شده و در مرحله سه برگی در پاییز سال ۱۳۹۳ به مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان منتقل شدند. در بهار سال بعد، بوته های غیر هیبرید (گندم) در مرحله گلدهی به راحتی قابل تشخیص بوده و از مزرعه حذف شدند. سنبله بوته‌های هیبرید برای اطمینان از خودباروری، پاکت‌گذاری شدند و درصد تشکیل بذر نسبت به تعداد گلچه‌های خودبارور شده برای هر نوع تلاقی محاسبه شد.

بررسی‌های میوزی

برای بررسی مراحل مختلف تقسیم میوز از جمله متافاز I و بررسی دانه‌های گرده، سنبله‌ها در مرحله تقسیم میوز جدا و در محلول تثبیت اتانول، اسید استیک (به نسبت سه به یک) به

مدت دو الی سه ساعت تثبیت شدند. بساک‌ها با استواورسئین رنگ‌آمیزی شده و له کردن آن‌ها روی لام به کمک استیک اسید ۴۵٪ انجام شد. از سلول‌ها در مرحله متافاز I میوز در زیر میکروسکوپ عکس‌برداری شد. سلول مادر گرده پس از میوز چهار سلول به هم پیوسته به نام تتراد به دست می‌دهد. با این حال ممکن است در هیبریدهای بین گونه‌ای علاوه بر تتراد، دیاد (دو سلول به هم پیوسته) نیز تشکیل شود که در نهایت به دانه‌های گرده کاهش نیافته تبدیل می‌شوند. لذا نسبت تعداد دیاد تقسیم بر(تعداد دیاد به اضافه دو برابر تعداد تتراد) در هر بساک بررسی شده به عنوان نسبت دانه‌های گرده (یا گامت) کاهش نیافته در نظر گرفته شد. از هر تلاقی تعداد پنج بساک از گلچه‌های بیرونی و وسط پنج سنبله مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

بررسی کارایی دانه گرده و میزان باروری

برای تعیین کارایی دانه‌های گرده در هیبریدها، دانه‌های گرده با رنگ الکساندر (Peterson *et al.*, 2010) رنگ‌آمیزی شدند. بدین منظور در زمانی که سنبله‌ها به طور کامل ظاهر شدند، پرچم بوته‌های متفاوت مربوط به هر نوع هیبرید به طور جداگانه درون میکروتیوپ‌های حاوی محلول فیکساتیو (اتانول و استیک اسید به نسبت سه به یک) به مدت دو تا سه ساعت تثبیت شد. دانه‌های گرده هر پرچم تثبیت شده به وسیله یک سوزن نوک تیز بر روی سطح لام پخش شده وبا اضافه کردن یک قطره رنگ الکساندر و رنگ‌آمیزی به کمک حرارت انجام شد. با این روش دانه‌های گرده فعال صورتی رنگ شده و بقیه رنگ نمی‌گیرند. از نمونه‌ها با استفاده از دوربین دیجیتالی متصل به میکروسکوپ عکس‌برداری شد. از هر نوع تلاقی حداقل چهل دانه گرده فعال بررسی شده و قطر آنها اندازه‌گیری شد. سایر سنبله‌های F_1 تا رسیدگی کامل در مزرعه نگهداری شدند و تعداد بذر تشکیل شده در هر نوع هیبرید نسبت به تعداد گلچه به عنوان شاخصی از باروری شمارش شد.

نتایج و بحث

تلاقی‌ها و تولید بذر F_1

در این تحقیق بذرهای F_1 بدون نیاز به تیمار هرمونی یا نجات جنین به دست آمدند. از هر رقم حداقل پانزده سنبله و مجموعاً چهل سنبله تلاقی داده شدند که در نتیجه ۷۵ بذر هیبرید به دست آمد. نرخ جوانه‌زنی برای ۵۷ بذر F_1 بررسی شده در تشتک‌پتری، ۱۰۰ درصد بود. پس از جدا کردن تعدادی مریستم ریشه (برای شمارش کروموزومی)، گیاهچه حاصل از این بذرها به گلدان و سپس در پاییز به مزرعه منتقل شدند. شمارش کروموزوم‌های نوک ریشه در تعدادی از بذرها وجود ۳۵ کروموزوم را در بذرها نشان داده و هیبرید بودن آن‌ها را تایید کرد (شکل 1a). علاوه بر این هیبرید بودن بوته‌های F_1 از طریق شکل ظاهری متفاوت

سنبله در مزرعه، قابل تشخیص بودند.

تقسیم میوز در هیبریدها

در بررسی تقسیم میوز در سنبله نارس بوته‌های هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا (با ژنوم $ABDD^cC^c$)، میوز به صورت طبیعی انجام و هیچ موردی از میوز کاهشی مشاهده نشد و محصول میوز همگی به صورت تتراد بود. کروموزوم‌ها در مرحله متافاز I در این هیبرید به صورت ترکیبی از یونی والنت‌ها و بیوالنت‌های حلقوی و میله‌ای بوده و به طور متوسط ۷-۵ بیوالنت حلقوی، ۷-۶ بیوالنت میله‌ای و ۲-۰ تری‌والنت مشاهده شد (شکل ۱c). بی‌والنت‌ها احتمالاً از اتصال کروموزوم‌های ژنوم‌های D و D^c به وجود آمدند.

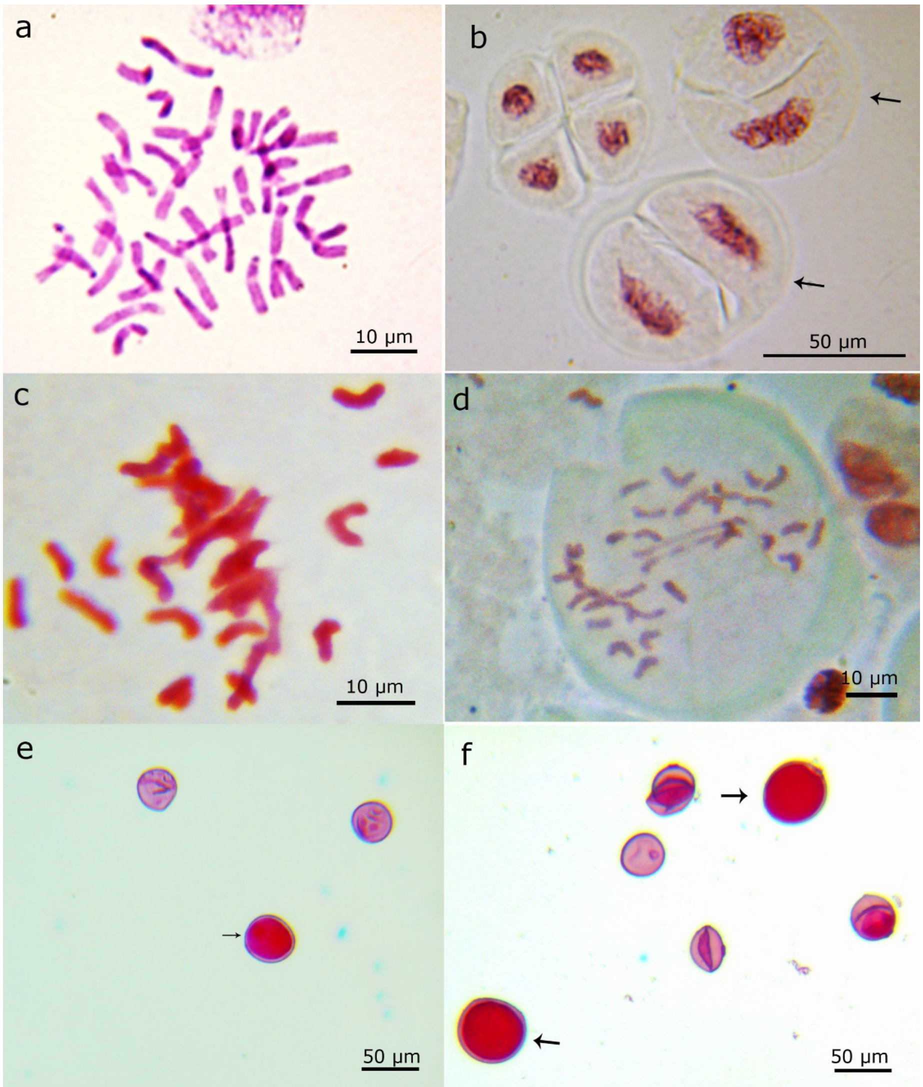
در مقابل، تقسیم غیر کاهشی و در نتیجه آن گامت‌های کاهش نیافته در هیبریدهای گندم × آجیلوپس تریانسیالیس (با ژنوم $ABDU^tC^t$) با فراوانی متوسط ۰/۱ مشاهده شد. تشکیل کروموزوم‌ها در متافاز I میوز در این نوع هیبرید غالباً ۲۱ یونی والنت و ۷ بیوالنت میله‌ای بود (شکل ۱d). تشکیل گامت‌های کاهش نیافته در هیبریدهای گندم × آجیلوپس تریانسیالیس از طریق رنگ‌آمیزی بافتی مطالعه شده و عدم وقوع تقسیم اول میوز (FDR) به عنوان مکانیسم غالب معرفی شده است. بدین‌معنی که تقسیم اول میوز در این هیبرید دچار وقفه شده و فقط تقسیم دوم میوز انجام می‌شود که طی آن کروماتیدها جدا و به قطبین می‌روند (Mirzaghaderi and Fathi, 2015). نتیجه چنین تقسیمی در سلول مادر گرده ایجاد دیاد (به جای تتراد که در میوز معمولی تشکیل می‌شود) است. فراوانی تولید دانه‌های گرده کاهش نیافته در هیبریدهای NC و OC، صفر و در هیبریدهای NT و OT به ترتیب ۶/۴ و ۵/۰ درصد برآورد شد.

کارایی دانه گرده

بین هیبریدهای حاصل از تلاقی گندم × آجیلوپس تریانسیالیس و گندم × آجیلوپس سیلیندریکا، تفاوت معنی‌داری در فراوانی دانه‌های گرده کارا وجود داشت (جدول ۱). فراوانی دانه‌های گرده کارا در هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا کمتر از یک درصد بود در حالی که این مقدار برای هیبریدهای گندم × آجیلوپس تریانسیالیس OT و NT به ترتیب ۴/۷۸ و ۲/۷ درصد به دست آمد. همچنین میانگین قطر دانه‌های گرده فعال در هیبریدهای گندم × آجیلوپس تریانسیالیس به طور معنی‌داری بیشتر از هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریگا بود (۶۰/۹۶ میکرومتر در مقابل ۳۹/۹۵ میکرومتر؛ $p\text{-value} < ۰/۰۰۱$).

باروری هیبریدها

بذردهی (باروری) هیبریدهای گندم× آجیلوپس تریانسیالیس و



شکل ۱- میوز در هیبریدهای حاصل از تلاقی‌های گندم نان × آجیلوپس تریانسیالیس و گندم نان × آجیلوپس سیلیندریکا

a) کروموزوم‌های متافازی میتوزی در یکی از سلول‌های نوک ریشه بذر هیبرید NT که وجود ۳۵ کروموزوم را نشان می‌دهد. b) تلوفاز II و دیاکینز در سه سلول مادر گرده گیاه هیبرید گندم نان × آجیلوپس تریانسیالیس. پیکان‌ها دیادها را نشان می‌دهند. c) متافاز I در سلول مادر گرده گیاه هیبرید گندم نان × آجیلوپس سیلیندریکا که یازده بی‌والنت میله‌ای و حلقوی نشان می‌دهد. d) متافاز I در سلول مادر گرده گیاه هیبرید گندم نان × آجیلوپس تریانسیالیس که هفت بی‌والنت‌های میله‌ای را نشان می‌دهد، e و f) رنگ‌آمیزی دانه‌های گرده به ترتیب در هیبریدهای گندم نان- آجیلوپس سیلیندریکا و گندم نان × آجیلوپس تریانسیالیس برای تعیین دانه‌های گرده فعال. پیکان ها دانه‌های گرده فعال را نشان می‌دهند

Fig. 1. Meiosis in bread wheat-*Ae. triuncialis* and bread wheat-*Ae. cylindrica* hybrids

a) Mitotic chromosome spread from a meristematic cell in the root tip of NT hybrid showing 35 chromosomes. b) Telophase II and diakinesis of meiosis in pollen mother cells(PMCs) of bread wheat-*Aegilops triuncialis*. Arrows point to the dyads. c) Metaphase-anaphase I in a pollen mother cell of bread wheat-*Ae. cylindrica* hybrid showing eleven ring and rod bivalents. d) Metaphase I in PMCs of bread wheat-*Ae. triuncialis* hybrids predominantly showed seven rod bivalents. e and f) Pollen staining for viability test of pollens in *Triticum aestivum-A*egilops *cylindrica* and*Triticum aestivum-triuncialis* hybrids. Arrows point to the viable pollens

گندم × آجیلوپس سیلیندریکا کاملاً متفاوت بود. در حالی که دانه‌های گرده فعال در هیبریدهای گندم× آجیلوپس سیلیندریکا مشاهده شد، هیچ بذری روی گیاهان مختلف این نوع از هیبریدها تشکیل نشد. با این وجود میزان بذردهی در هیبریدهای گندم × آجیلوپس تریانسیالیس به طور متوسط ۰/۶۳ درصد بود. هیبریدهای NT و OT به ترتیب ۰/۷۵ و ۰/۵۲ درصد بذر F_2 تولید کردند (جدول ۱). بذرهای F_2 ظاهری توپر داشتند که نشان‌دهنده تشکیل موفق آندوسپرم در بذر بود.

فرض این تحقیق این بود که دانه‌های گرده کاهش نیافته با فراوانی بیشتری در هیبریدهای گندم × آجیلوپس تریانسیالیس با ژنوم $ABDU^tC^t$ (فاقد ژنوم همولوگ) نسبت به هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا با ژنوم $ABDD^cC^c$ (دارای ژنوم همولوگ)، تشکیل می‌شود. این فرض از طریق بررسی میوز، میزان دانه‌های گرده کاهش نیافته، کارایی دانه گرده و میزان بذردهی در هیبریدهای مربوطه مورد تأیید قرار گرفت. میوز در هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا به صورت کاهشی انجام شد به طوری که محصول نهایی میوز همواره به صورت تتراد بوده و هیچ گامت کاهش نیافته‌ای مشاهده نشد. به همین دلیل بذر به ندرت در این نوع هیبرید تشکیل شد. در مقابل، هیبریدهای گندم × آجیلوپس تریانسیالیس، میوز غیر کاهشی از نوع FDR در ۵/۷ درصد از سلول‌های مادر گرده مشاهده شد.

چنین میوز غیر کاهشی در هیبریدهای بین گونه‌ای طایفه گندمیان بارها مشاهده شده است (Matsuoka *et al.*, 2013؛ Silkova *et al.*, 2011؛ Zhang *et al.*, 2010). برای مثال مشاهده شده است که کروموزوم‌های در هیبریدهای گندم دوروم × آجیلوپس تاوشی به صورت یونی والنت طوری در متافاز I میوز قرار می‌گیرند که کاینتوکورها رو به قطبین قرار گرفته و به صورت قرینه به رشته‌های دوکی متصل می‌شوند. چنین آرایشی منجر به میوز غیر کاهشی از نوع FDR می‌شود (Cai *et al.*, 2010). چنین میوزی همچنین در هیبریدهای گندم × چاودار از طریق روش FISH در روی سلول‌های مادر گرده، تایید شده است (Zeng *et al.*, 2014).

چنین نتایجی به طور کلی این فرض را تایید می‌کند که در هیبریدهای بین گونه‌ای، احتمال میوز غیر کاهشی و تولید گرده‌های کاهش نیافته تحت تاثیر میزان قرابت ژنتیکی والدین آن‌ها است به طوری که در هیبریدهای حاصل از والدین دارای خویشاوندی ژنتیکی کم، نرخ تولید گامت های کاهش نیافته بیشتر است. از آن‌جا که در چنین حالتی کروموزوم‌ها در متافاز I اغلب به صورت یونی والنت باقی مانده یا ندرتاً بیوالنت (غالباً میله‌ای) تشکیل می‌دهند، تصور می‌شود که میوز غیر کاهشی، وابسته به فراوانی یونی والنت‌ها است (de Storme and Mason, 2015). از طرف دیگر، هیبریدهای حاصل از تلاقی والدین

جدول ۱- فراوانی دانه گرده کاهش نیافته (2n)، کارایی دانه گرده، قطر دانه گرده و میزان بذردهی (باروری) در گیاهان هیبرید حاصل از تلاقی‌های گندم نان × آجیلوپس تریانسیالیس و گندم نان × آجیلوپس سیلیندریکا

Table 1. Frequency of unreduced gamete (2n), pollen viability, pollen diameter and seed set (fertility) on F_1 hybrids derived from *Triticum aestivum-Aegilops triuncialis* and *T. aestivum-Ae. cylindrical*

هیبرید Hybrid	گرده کاهش نیافته Unreduced gamete (%)	کارایی گرده Pollen viability (%)	قطر گرده فعال Viable pollen diameter (µm)	باروری Fertility تعداد سنبله بررسی شده No. of evaluated spikes	تعداد گلچه خودبارور شده No. of selfed spikeletes	تعداد بذر تشکیل شده No. of seeds set	بذر تشکیل شده Seed set (%)
NT	6.4a	4.78a	61.43a	106	2120	16	0.75
OT	5.0a	2.70b	60.50a	120	3260	17	0.52
NC	0.0b	0.43c	37.52c	111	1845	0	0.00
OC	0.0b	0.26c	42.39b	105	1774	0	0.00

اعداد با حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بر اساس $LSD_{0.05}$ است.

Values with different letters in each column indicate significant difference based on $LSD_{0.05}$.

NT: Wheat cv. Navid×*Aegilops triuncialis*
NC: Wheat cv. Navid×*Ae. cylindrical*
OT: Wheat cv. Omid ×*Ae. triuncialis*
OC: Wheat cv. Omid ×*Ae. cylindrica*

خویشاوند که نسبتی از ژنوم آن‌ها با هم هومولوژی دارد، به طور معمول متحمل میوز کاهشی می‌شوند. در این حالت تعداد زیاد بیوانت میله‌ای و حلقوی در متافاز I، میوز را به سمت حالت غیر کاهشی سوق می‌دهد. در این حالت فراوانی تشکیل دانه‌های گرده فعال به میزان خویشاوندی والدین بستگی دارد به طوری که هیبریدهای حاصل از تلاقی والدین خیلی نزدیک به یکدیگر، دانه‌های گرده کاهش یافته و فعال بیشتری تولید می‌کنند. علاوه بر این، نرخ تولید گامت‌های کاهش نیافته ممکن است تحت تاثیر ژنوتیپ و اثر متقابل ژنوتیپ × محیط نیز قرار گیرد (Mason *et al.*, 2011؛ Xu and Joppa, 2000). نتیجه تقسیم میوز در هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا همواره به صورت تتراد بوده و هیچ موردی از دیاد مشاهده نشد. به همین صورت میوز در هیبریدهای بین گونه‌ای گندم دوروم × آجیلوپس تاوشی تتراپلوئید که دارای ترکیب ژنومی ABDD یودند، فقط به صورت کاهشی انجام شده و دو ژنوم D در هیبریدها از تقسیم میوز غیر کاهشی جلوگیری کرد (Wang *et al.*, 2010). در تحقیق حاضر، گرچه ژنوم‌های D و D^c در هیبریدها مربوط به دو ژنوم مختلف بودند، با این وجود هنوز از تقسیم غیر کاهشی در هیبریدهای

گندم × آجیلوپس سیلیندریکا جلوگیری کردند.

میانگین میزان باروری هیبریدهای F_1 که از طریق فراوانی بذرهای F_2 برآورد شد در هیبریدهای گندم × آجیلوپس تریانسیالیس ۰/۶۳درصد بود.این مقدار کمتر از مقدار ۱/۸۲درصداست که قبلاً برای هیبریدهای گندم × آجیلوپس تریانسیالیس گزارش شده بود (Loureiro *et al.*, 2009). در تحقیقی دیگر میزان باروری هیبریدهای F_1 در تلاقی‌های حاصل از تلاقی پنج رقم گندم × آجیلوپس تریانسیالیس به طور متوسط ۳/۵ درصد گزارش شد (Mirzaghaderi and Fathi, 2015). در تریتیکوم تورجیدوم × آجیلوپس تاوشی زیر گونه استرانگولاتا (ssp. *strangulata*) و هیبریدهایتریتیکوم تورجیدوم × آجیلوپس تاوشی زیر گونه تاوشی (ssp. *tauschii*)، متوسط درصد تشکیل بذر به ترتیب ۴/۹۳ و ۷/۹۷ درصد گزارش شده است (Zhang *et al.*, 2010). تشکیل کمتر بذر در تحقیق حاضر نسبت به تحقیقات قبلی در هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا ممکن است به دلیل اثر ژنتیکی و یا ژنتیکی- محیطی باشد. در مقابل عدم باروری هیبریدهای گندم × آجیلوپس سیلیندریکا به دلیل عدم تشکیل دانه‌های گرده کاهش نیافته و فراوانی خیلی کم دانه‌های گرده فعال (جدول ۱) بود. در تایید این موضوع، ژانگ و همکاران بیان کردند که تعداد بذر حاصل از خودباروری (نسبت به تعداد گلچه‌های خودبارور شده) در هیبریدهای بین گونه‌ای تریتیکوم تورجیدوم × آجیلوپس تاوشی، شاخص خوبی از میزان تشکیل گامت‌های کاهش نیافته است (Zhang *et al.*, 2007). آن‌ها میزان باروری (برآورد شده از طریق نسبت بذردهی) را در این هیبریدها، ۲۵ درصد گزارش کردند. به طور کلی نتایج تحقیق حاضر می‌تواند در ایجاد گیاهان آمفی‌پلوئید از طریق گامت‌های کاهش نیافته کاربرد داشته باشد. چنین گیاهانی با سطح پلوئیدی بالاتر می‌تواند به عنوان پلی در انتقال ژن‌های صفات مطلوب از گونه‌های وحشی به گونه‌های زراعی به کار روند.

References

Blanco, A., Simeone, R., Tanzarella, O.A., and Greco, B. 1983. Morphology and chromosome pairing of a hybrid between *Triticum durum* Desf. and *Haynaldia villosa* (L.) Schur. Theoretical and Applied Genetics 64: 333-7.

Cai, X., Xu, S.S., and Zhu, X. 2010. Mechanism of haploidy-dependent unreductional meiotic cell division in polyploid wheat. Chromosoma 119: 275-285.

de Storme, N., and Geelen, D. 2013. Sexual polyploidization in plants–cytological mechanisms and molecular regulation. New Phytologist 198: 670-684.

de Storme, N., and Mason, A. 2015. Plant speciation through chromosome instability and ploidy change: Cellular mechanisms, molecular factors and evolutionary relevance. Current Plant Biology 1: 10-33.

Gu, Y.Q., Coleman-Derr, D., Kong, X., and Anderson ,O.D. 2004. Rapid genome evolution revealed by comparative sequence analysis of orthologous regions from four Triticeae genomes. Plant Physiology 135: 459-470.

Harlan, J.R., and Zohary, D. 1966. Distribution of wild wheats and barley. Science 153: 1074–1080.

Huang, S., Sirikhachornkit, A., Su, X., Faris, J., Gill, B., Haselkorn, R., and Gornicki, P. 2002. Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the *Triticum/Aegilops* complex and the evolutionary history of polyploidwheat. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 99: 8133-8138.

Islam, A.K.M.R., and Shepherd, K.W. 1980. Meiotic restitution in wheat barley hybrids. Chromosoma 68: 252–261.

Lim, K.B., Ramanna, M.S., de Jong, J.H., Jacobsen, E., and van Tuyl, J.M. 2001. Indeterminate meiotic restitution (IMR): a novel type of meiotic nuclear restitution mechanism detected in interspecific lily hybrids by GISH. Theoretical and Applied Genetics 103: 219-230.

Loureiro, I., Escorial, C., Garcıa-Baudin, J.M., and Chueca, M.C. 2009. Spontaneous wheat-*Aegilops biuncialis*, *Ae. geniculata* and *Ae. triuncialis* amphiploid production, a potential way of gene transference. Spanish Journal of Agricultural Research 7: 614-620.

Maan, S.S., and Sasakuma, T. 1977. Fertility of amphihaploids in Triticinae. Journal of Heredity 57: 76-83.

Mason, A. S., Nelson, M., Yan, G., and Cowling, W. 2011. Production of viable male unreduced gametes in Brassicainterspecific hybrids is genotype specific and stimulated by cold temperatures. BMC Plant Biology 11: 103.

Mason, A. S., and Pires, J.C. 2015. Unreduced gametes: meiotic mishap or evolutionary mechanism? Trends in Genetics 31: 5-10.

Matsuoka, Y., Nasuda, S., Ashida, Y., Nitta, M., Tsujimoto, H., Takumi, S., and Kawahara, T. 2013. Genetic basis for spontaneous hybrid genomedoubling during allopolyploid speciation of common wheat shown by natural variation analyses of the paternal species. PLoS One 8: e68310.

Mirzaghaderi, G., and Fathi, N. 2015. Unreduced gamete formation in wheat: *Aegilops triuncialis* interspecific hybrids leads to spontaneous complete and partial amphiploids. Euphytica 206: 67-75.

Petersen, G., Seberg, O., Yde, M., and Berthelsen, K. 2006. Phylogenetic relationships of Triticumand Aegilopsand evidence for the origin of the A, B, and D genomes of commonwheat (*Triticum aestivum*). Molecular Phylogenetics and Evolution 39: 70-82.

Peterson, R., Slovin, J.P., and Chen, C. 2010. A simplified method for differential staining of aborted and non-aborted pollen grains. International Journal of Plant Biology, 1 :e13.

Ramsey, J. and Schemske, D.W. 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. Annual Review of Ecology and Systematics 29: 467-501.

Schmidt, A., Schmid, M.W., and Grossniklaus, U. 2015. Plant germline formation: common concepts and developmental flexibility in sexual and asexual reproduction. Development 142: 229-241.

Silkova, O.G., Shchapova, A.I., and Shumny, V.K. 2011. Patterns of meiosis in ABDR amphihaploids depend on the specific type of univalent chromosome division. Euphytica 178: 415-426.

Tayalé, A., and Parisod, C. 2013. Natural pathways to polyploidy in plants and consequences for genome reorganization. Cytogenetic and Genome Research 140: 79-96.

Tiwari, V.K., Rawat, N., Neelam, K., Randhawa, G.S., Singh ,K., Chhuneja, P., and Dhaliwal, H.S. 2008. Development of *Triticum turgidum* subsp. *durum* – *Aegilops longissima* amphiploids with high iron and zinc content through unreduced gamete formation in F1 hybrids. Genome 51: 757-766.

Wang, C.-J., Zhang, L.-Q., Dai, S.-F., Zheng, Y.-L., Zhang, H.-G., and Liu, D.-C. 2010. Formation of unreduced gametes is impeded by homologous chromosome pairing in tetraploid *Triticum turgidum* × *Aegilops tauschii* hybrids. Euphytica 175: 323-329.

Xu, S., and Joppa, L. 2000. First-divisionrestitution in hybrids of Langdon durum disomic substitution lines with rye and *Aegilops squarrosa*. Plant Breeding 119: 233-241.

Xu, S.J., and Dong, Y.S. 1992. Fertility and meiotic mechanisms of hybrids between chromosome autoduplication tetraploid wheats and Aegilops species. Genome, 35: 379-384.

Zeng, D.-Y., Hao, M., Luo, J.-T., Zhang, L.-Q., Yuan, Z.-W., Ning, S.-Z., Zheng, Y.-L., and Liu, D.-C. 2014. Amphitelic orientation of centromeres at metaphase I is an important feature for univalent-dependentmeiotic nonreduction. Journal of Genetics 93: 531-534.

Zhang, L.-Q., Liu, D.-C., Zheng, Y.-L., Yan, Z.-H., Dai, S.-F., Li, Y.-F., Jiang, Q., Ye, Y.-Q., and Yen, Y. 2010. Frequent occurrence of unreduced gametes in *Triticum turgidum–Aegilops tauschii* hybrids. Euphytica 172: 285-294.

Zhang, L.-Q., Yen, Y., Zheng, Y.-L., and Liu, D.-C. 2007. Meiotic restriction in emmer wheat is controlled by one or more nuclear genes that continue to function in derived lines. Sexual Plant Reproduction 20: 159-166.